

RELATION POSSIBLE ENTRE L'AGRESSIVITÉ DE DEUX SOUCHES D'*EUTYPA LATA* ET LEUR CONTENU EN POLYAMINES ET EN ACIDE ABCISSIQUE

POSSIBLE RELATIONSHIP BETWEEN AGGRESSIVENESS OF TWO *EUTYPA LATA* ISOLATES AND THEIR POLYAMINES AND ABCISIC ACID CONTENT

T. KOUSSA*, M. BROQUEDIS** et Bernadette DUBOS***

*Département de Biologie, Laboratoire de Physiologie et Pathologie Végétales,
Université Chouaïb Doukkali, Faculté des Sciences, 24000 El Jadida (Maroc)

**Institut de la Vigne de Bordeaux, Laboratoire des Sciences de la Vigne,
Université Bordeaux I, avenue des Facultés, 33405 Talence cedex (France)

***Institut de la Vigne de Bordeaux, Station de Pathologie Végétale,
I.N.R.A. Centre de Recherches de Bordeaux, Pont de la Maye, 33883 Villenave d'Ornon cedex (France)

Abstract : By HPLC analysis, we showed that myceliums of two *Eutypa lata* isolates cultivated in Errikson and Petersson medium culture synthesized polyamines (Putrescine, Spermidine and Spermine) and abscisic acid (ABA). In this medium, myceliums of high virulent isolate (BX1-10) produced fewer polyamines than less virulent isolate (BX1-5) while inverse phenomenon was observed for ABA content. The two growth regulators were diffused in medium culture in which their levels increase with age of mycelium. In the end, variations of PA and ABA in myceliums show antagonist effect of the two growth regulators in *Eutypa lata* fungi.

Mots clés : *Eutypa lata*, souches, agressivité, polyamines, acide abscissique

Key words : *Eutypa lata*, isolates, aggressiveness, polyamines, abscisic acid

Eutypa lata (Pers : Fr.) Tul. & C. Tul. (syn. *E. armeniaca* Hansf & Carter), l'agent pathogène responsable de l'Eutypiose de la vigne, sévit actuellement dans tous les vignobles français et du monde (MIMIAGUE et LE GALL, 1994). Champignon parasite du bois, il provoque un grave dépérissement de la plante (LE GALL et LE GAT, 1994).

Une étude récente menée par BROQUEDIS *et al.* (1993) a montré qu'*E. lata* induit chez la vigne un dérèglement hormonal concernant deux régulateurs de croissance ayant des propriétés antagonistes : l'acide abscissique (ABA) et les polyamines (PA).

Différentes souches d'*E. lata* d'agressivité différentes étant connues, il était intéressant de savoir si elles différaient par leur capacité de synthèse des deux régulateurs de croissance précédemment cités.

MATERIEL ET MÉTHODES

Pour réaliser cette étude, deux souches d'*E. lata* d'origine bordelaise ont été utilisées. Ces deux souches : BX1-10 (très agressive) et BX1-5 (moins agressive), ont été cultivées à une température de 23°C dans le milieu liquide d'ERIKSSON et PETERSSON (1975)

à l'obscurité et sans agitation. Les analyses ont été effectuées sur les mycéliums lyophilisés et le filtrat de culture après 7, 14 et 21 jours de culture.

L'extraction de L'ABA libre a été réalisée au moyen de la méthode mise au point par BROQUEDIS (1987), celle des polyamines libres selon la technique décrite par FLORES et GALSTON (1982) et adaptée à la vigne par BROQUEDIS *et al.* (1989).

Le dosage de ces deux régulateurs de croissance a été effectué par chromatographie liquide à haute performance.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

I — VARIATION DES TENEURS EN POLYAMINES DANS LES MYCÉLIUMS ET LES FILTRATS DE CULTURE D'*E. LATA*

Le dosage des PA dans les mycéliums et dans les filtrats des deux souches d'*E. lata* a permis de mettre en évidence l'existence de trois PA : la Putrescine (Put), la Spermidine (Spd) et la Spermine (Spm). *E. lata* semble donc capable de synthétiser des PA et d'en libérer dans le milieu extérieur.

TABLEAU I

Variations des proportions des différentes PA dans les mycéliums et les filtrats de culture de deux souches d'*E. lata* (BX1-5 et BX 1-10) cultivées dans le milieu d'Erriksson et Petersson au cours 3 semaines de culture.

Table I — Variations of PA proportions in myceliums and culture filtrates of two *E. lata* isolates (BX1-5 and BX1-10) cultivated in Erriksson and Petersson medium during 3 weeks

		BX1-5			BX1-10		
		Put	Spd	Spm	Put	Spd	Spm
Mycéliums	7 j	7	89	4	4	90	6
	14 j	10	82	8	6	81	13
	21 j	7	82	11	4	80	16
Filtrats	7 j	48	30	22	24	54	22
	14 j	30	39	31	11	41	48
	21 j	38	42	20	36	35	29

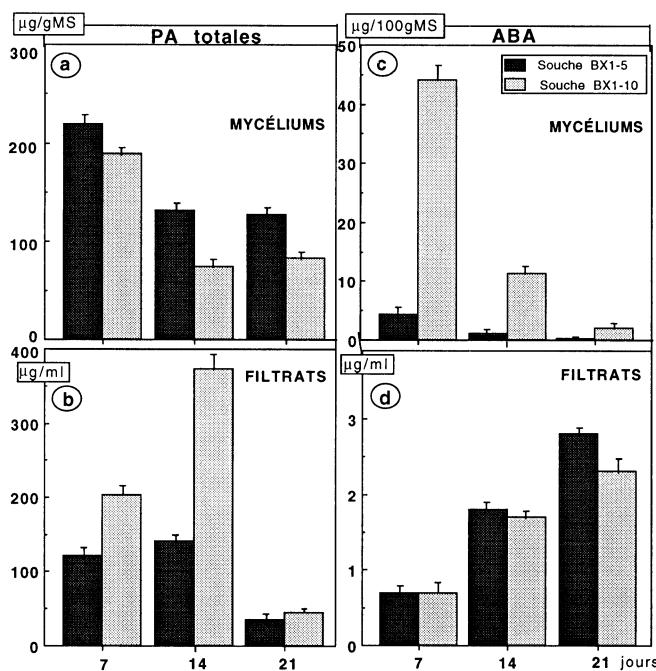


Fig. 1a, b, c, d — Variations des teneurs en ABA et en PA totales dans les mycéliums et les filtrats de culture de deux souches d'*E. lata* (BX1-5 et BX1-10) cultivées dans le milieu d'ERIKSSON et PETERSSON au cours de 3 semaines de culture

Fig. 1a, b, c, d — Variations of ABA and total PA levels in myceliums and culture filtrates of two *E. lata* isolates (BX1-5 and BX1-10) cultivated in Erriksson and Petersson medium during 3 weeks

L'étude des variations de la teneur en PA totales du mycélium des deux souches au cours de la période de culture montre que ces teneurs diminuent du 7^e au 14^e jour et restent stables ensuite (figure 1a). Ce type de variation est également observé pour la spermidine qui est la PA la plus abondante dans les deux souches (tableau I). La spermine, en revanche s'accumule légèrement pendant les 21 jours de culture, alors que la Put ne présente pas de variations significatives.

Dans les filtrats, les PA totales, dans nos conditions expérimentales, s'accumulent jusqu'au 14^e jour. Ces substances sont donc libérées par le mycélium (figure 1b). Au 21^e jour de culture, les teneurs en PA totales diminuent fortement dans les filtrats de culture des deux souches. À l'inverse du mycélium, les filtrats ne laissent apparaître aucune prédominance nette pour l'une des PA au cours des 21 jours de culture.

Pour expliquer les variations des PA observées, nous sommes amenés à admettre que le mycélium régule sa teneur en PA en libérant ces substances dans le milieu extérieur, comme cela a été suggéré par (DAVIS et RISTOW, 1989) pour le mycélium de *Neurospora crassa*. Au 21^e jour de culture, la diminution des PA totales dans les filtrats, suggère qu'en conditions défavorables (appauvrissement des milieux de culture) le mycélium pourrait réguler sa teneur en PA en absorbant les PA du milieu extérieur. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons ensemencé la souche BX1-10 dans des boîtes de Petri contenant le milieu malt-agar auquel nous avons préalablement ajouté des concentrations croissantes de Put. Après 5 jours de culture, les surfaces des colonies montrent, par rapport au témoin, des accroissements de 2 p. cent, de 5 p. cent et de 9 p. cent lorsque la concentration en Put passe respectivement de 0,1 M à 0,5 M et à 1 M. Il semble donc que plus la concentration en Put est élevée plus la croissance du champignon est importante. Ce résultat s'accorde avec l'hypothèse d'une absorption de PA, ce qui rejoint d'ailleurs les observations faites sur d'autres champignons (DAVIS et RISTOW, 1989).

Si l'on compare la teneur des différentes PA des deux souches en fonction de leur agressivité, on constate qu'elles sont plus élevées dans les mycéliums de la souche BX1-5. En revanche, pour les filtrats, c'est l'inverse qui est observé. Une telle différence laisse penser que l'agressivité plus grande de la souche BX1-10, par rapport à la souche BX1-5, serait le résultat d'une libération plus intense des PA dans le milieu extérieur et probablement aussi dans les plantes attaquées. Un excès de PA peut, en effet, induire un phénomène de toxicité faisant apparaître des nécroses (LESPY LABAYLETTE, 1995).

II — VARIATION DES TENEURS EN ACIDE ABS-CISSIQUE DANS LES MYCÉLIUMS ET LES FILTRATS DE CULTURE D'*E. LATA*

Les analyses que nous avons effectuées mettent en évidence la présence d'ABA dans le mycélium et dans les filtrats de culture des deux souches d'*E. lata*. Pour vérifier que le pic obtenu sur les chromatogrammes correspond bien à l'ABA, nous avons exposé les extraits réalisés à partir du mycélium et des filtrats à un rayonnement U.V. L'apparition du *trans*-ABA dans les deux types d'extraits prouve qu'ils contenaient effectivement de l'ABA. Les deux souches d'*E. lata* semblent donc pouvoir synthétiser de l'ABA et en libérer dans le milieu extérieur.

L'étude des variations de la teneur en ABA dans les mycéliums des deux souches montre une diminution au cours de la période de culture (figure 1c). Au 21^e jour, la teneur en ABA de la souche BX1-10 est très faible et celle de la souche BX1-5 est pratiquement nulle. A l'inverse des mycéliums, les filtrats des deux souches accumulent de plus en plus de l'ABA au cours de la période de culture (figure 1d). Dans le cas où cette libération se retrouverait aussi *in vivo*, c'est-à-dire dans les organes de la vigne atteints par d'Eutypiose, elle pourrait expliquer, au moins en partie, l'arrêt de la croissance végétative.

La comparaison des teneurs en ABA des deux souches montre que le mycélium de la souche la plus agressive (BX1-10) présente des teneurs beaucoup plus élevées que celles de la souche la moins agressive (BX1-5). Pour ce qui est des filtrats, les teneurs en ABA des deux souches, identiques au 7^e jour de culture, augmentent jusqu'au 21^e jour mais de façon plus intense dans le filtrat de la souche BX1-5, la moins agressive.

Une telle différence observée entre les deux souches pourrait être en relation avec leur agressivité. On pourrait, en effet, penser que la souche la plus agressive synthétise davantage d'ABA mais en libère moins dans le filtrat de culture. Ce phénomène permettrait de maintenir une forte teneur en ABA dans le mycélium, ce qui favoriserait la germination des spores et, par conséquent, une colonisation plus rapide du milieu. Un tel phénomène a été, en effet, signalé dans le cas de *Gleosporium album* et de *Botrytis cinerea* (BORECKA et PIENIAZEK, 1969). Par ailleurs, la croissance du champignon diminuant avec l'appauvrissement du milieu de culture suggère que cette synthèse d'ABA diminuerait avec l'âge du mycélium.

Il est intéressant de noter que le mycélium de la souche la plus agressive (BX1-10) contient plus d'ABA et moins de PA que la souche la moins agressive (BX1-5). Un tel fait, laisse apparaître là aussi le rôle anta-

goniste de l'ABA et des PA signalé auparavant chez les végétaux supérieurs. On pourrait alors penser que les fortes teneurs en ABA synthétisées par les mycéliums inhiberaient, en partie, la biosynthèse des PA. Cette inhibition affecterait surtout la spermidine qui est la polyamine la plus abondante dans le mycélium. Une telle relation entre l'ABA et les PA a d'ailleurs été signalée chez les végétaux supérieurs et notamment chez la vigne (BROQUEDIS et BOUARD, 1989 ; RICOUARD *et al.*, 1994).

CONCLUSION

Il ressort de cette étude que les mycéliums des souches BX1-5 et BX1-10 sont capables de synthétiser de l'ABA et des PA et d'en libérer dans le milieu extérieur. Cette synthèse semble en relation avec l'agressivité de la souche considérée. Ce comportement des souches d'*E. lata* pourrait être à l'origine d'un déséquilibre hormonal pouvant expliquer les différences d'intensité des symptômes observées sur les organes de vigne.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BORECKA H. et PIENIAZEK T., 1969. Stimulatory effect of abscisic acid on spore germination of *Gleosporium album* Osterw. and *Botrytis cinerea* Pers. *Bull. Acad. Pol. Sci.*, XVI, 657-661.
- BROQUEDIS M., 1987. L'acide abscissique et l'abscissate de β -D-glucopyranose dans le développement des baies de raisin, la germination des pépins et la formation des racines sur les boutures de vigne. *Thèse d'Etat*, Bordeaux, 225 pages.
- BROQUEDIS M., DUMERY B. et BOUARD J., 1989. Mise en évidence de polyamines (putrescine, cadavérine, nor-spermidine, spermidine et spermine) dans les feuilles et les grappes de *Vitis vinifera* L. *Connaissance Vigne Vin*, 23, n°1, 1-6.
- BROQUEDIS M. et BOUARD J., 1989. Les polyamines et leurs relations avec l'acide abscissique au cours du développement de la baie de raisin. *In Actualités Œnologiques et Viticoles 1989*. DUNOD éd., 567 p., 117-121.
- BROQUEDIS M., CAUCHOIS A., DUBOS B. et BOUARD J., 1993. L'acide abscissique et les polyamines dans les mycéliums d'*Eutypa Lata* et dans les feuilles et les grappes de vigne atteintes d'Eutypiose. *Colloque du groupe Intégrée en Viticulture de l'Organisation Internationale de Lutte biologique et Intégrée contre les Animaux et les Plantes Nuisibles (OILB)*, Bordeaux, 2-5 mars 1993.

- DAVIS R.H. et RISTOW J.L., 1989. Uptake, intracellular binding, and excretion of polyamines during growth of *Neurospora crassa*. *Arch. Bioch. Bioph.*, **271**, 2, 315-322.
- ERIKSSON K.E. et PETERSSON B., 1975. Extracellular enzyme system utilised by the fungus *Sporotrichum puerulentum* (*Chrysosporium lignorum*) for the breakdown of cellulose. *Europ. Journal Biochem.*, **51**, 193-206.
- FLORES H.E. et GALSTON A.W., 1982. Analysis of polyamines in higher plants by high performance liquid chromatography. *Plant Physiol.*, **69**, 701-706.
- LESPY-LABAYLETTE Ph., 1995. Recherches sur les polyamines des baies de raisin au cours de leur développement et des pépins au cours de leur germination. *Doctorat d'Université*, Bordeaux II, 183 pages.
- LE GALL D. et LE GAT Y., 1994. Évaluations de la nuisibilité de l'Eutypiose au vignoble. *Ann. A.N.P.P.*, 4^e conférence Int. sur les maladies des plantes. Tome III, 1271-1284.
- MIMIAGUE F. et LE GALL D., 1994. Bilan sur les enquêtes Eutypiose dans le vignoble Européen. *Ann. A.N.P.P.*, 4^e conférence int. sur les maladies des plantes. Tome III, 1263-1270.
- RICOUARD N., BROQUEDIS M. et BOUARD J., 1994. L'acide abscissique et la putrescine dans les bourgeons à différentes étapes de la multiplication de la vigne par greffage. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, **28**, n°4, 293-302.

Note reçue le 15 septembre 1997.